

Title	自由10 10血痕の人獣血鑑別に関する研究：高速液体クロマトグラフィーによる簡便・迅速な鑑別法の開発(III 共同利用研究 2.研究成果)
Author(s)	高部, 福太郎; 井上, 博之
Citation	霊長類研究所年報 (1991), 21: 81-81
Issue Date	1991-09-30
URL	http://hdl.handle.net/2433/164221
Right	
Type	Departmental Bulletin Paper
Textversion	publisher

在するものと考えられていた。ニホンザルとアカゲザルが同じ遺伝子地図を有していると考え、従来考えられていた位置とは異なる位置にマッピングされ、進化の過程で何らかの染色体構造の変化が生じたものと考えられる。

自由9:

免疫グロブリンC。遺伝子のヒンジ領域からみた霊長類の進化

渡辺裕二(東京大・理)

免疫グロブリンC。遺伝子のヒンジ領域はヒト上科においては15塩基を基本単位とした繰り返し構造を有し、進化過程でその長さを変化させてきたことが明らかにされている。またC。遺伝子はヒト上科の進化の過程で遺伝子重複と欠失によりゲノム中でのコピー数を変化させてきている。これに対しカニクイザルはゲノム中に1つのC。遺伝子しかもたず、またそのヒンジ領域にはヒト上科にみられた15塩基の繰り返し構造がみられない。そこで旧世界ザル全体でC。遺伝子及びそのヒンジ領域の進化過程を明らかにするために、まずカニクイザル以外の旧世界ザルについてC。遺伝子のゲノム中のコピー数をサザン法により調べた。

調べた旧世界ザルは次の4属7種22個体である：ニホンザル(*Macaca fuscata*) 6個体、アカゲザル(*M. mulatta*) 6個体、タイワンザル(*M. cyclopis*) 3個体、ブタオザル(*M. nemestrina*) 1個体、マントヒヒ(*Papio hamadryas*) 3個体、バタスザル(*Erythrocebus patas*) 1個体、ミドリザル(*Cercopithecus aethiops*) 2個体。これらの高分子DNAを末梢血より抽出し、制限酵素Bgl IIで完全消化し、ヒトC。2遺伝子を含むDNA断片をプローブとしてサザン実験を行なった。その結果、すべての個体で1本のバンドが検出され、バンドの大きさはバタスザルとミドリザルで10.5kbである以外はすべてほぼカニクイザルと同じ16.5kbであった。したがって、カニクイザルを含めて旧世界ザルはゲノム中に1つのC。遺伝子を有し、その数に変異はないことが示された。現在、カニクイザルC。遺伝子のヒンジ領域の周辺領域をプライマーとして、上記旧世界ザルを含む種々の旧世界ザルについてPCR法でヒンジ領域の構造を明らかにしつつある。

自由10:

10血痕の人獣血鑑別に関する研究—高速液体クロマトグラフィーによる簡便・迅速な鑑別法の開発—

高部福太郎・井上博之(名市大・医)

血液及び血痕の種属鑑別は法医学の実際においてきわめて重要な課題の一つであり、主としてヒトヘモグロビン特異抗体を使用した多数の方法が開発され、実践されている。しかしながら免疫血清学的方法では検体が人血由来でなかった場合、その動物の種属を決定するためには、多種類の動物ヘモグロビンに対する抗血清を用意しなければならない。我々は昨年度の研究において高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によりヒト、ヒト以外の霊長類17種及びその他の脊椎動物11種からのグロビン鎖を相互に分離する条件を考案し、血液及び血痕から種属鑑別を行う方法として応用した。使用したHPLC用カラムはSynchropak RP-4(4.6×250mm)であり、0.1%トリフルオロ酢酸存在下、水-アセトニトリルのグラジェント溶出で分析を行った。今年度は同タイプのセミマイクロボアカラム(2.1×250mm)を使用して高感度な検出法を検討した。

流速を0.2ml/minとし、アセトニトリルの溶出勾配を若干改良することで、昨年とほぼ同様なクロマトグラムが得られた。分析に要したHb量は約1μgであり、昨年と比較して約40倍の高感度を得ることが出来た。流速を1/5に下げることによってアセトニトリルの使用量も下がり、ランニングコストを軽減することが出来た。

通常マイクロボアカラムを使用するには、低流速において脈流の無い安定な送液や溶出勾配を得るための特殊なHPLCポンプシステム、試料拡散を極力抑えるためのより細い内径の配管や検出器内のフローセル等を使用しなければならない。しかしながら今回検討したセミマイクロボアカラムの場合、特別な配慮なしに昨年度使用したシステム(Ultrochrom GTi, LKB)に接続するだけで安定な結果を得ることが出来た。

本法は簡便性、迅速性、高感度及び種属特異性の点で優れ、法医学上有用であると考えられる。

自由11:

ニホンザル末梢リンパ球よりSimian Immunodeficiency Virus 分離の試み

村山裕一(予研・筑波霊長類センター)